

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 13 日現在

機関番号：22604

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K12516

研究課題名(和文)『疲労骨折はミクロ損傷蓄積による骨質劣化の末路』の着想に基づく骨折リスク音響診断

研究課題名(英文) Acoustic Diagnosis of Bone Fracture Risks Based on the Conception [Bone fatigue fracture is a result of the degradation of bone quality due to microdamage accumulation]

研究代表者

若山 修一 (WAKAYAMA, Shuichi)

首都大学東京・理工学研究科・教授

研究者番号：00191726

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：ラットに卵巣摘出手術を施し、術後13週および19週後に摘出した大腿骨を骨粗鬆症モデル試験片とした。曲げ試験、圧縮試験で機械的特性を評価するとともに、AE(アコースティック・エミッション)計測でミクロ損傷の蓄積過程をモニタリングした。また、マイクロX線CT画像解析で骨量(骨密度)を評価するとともに、超音波伝播特性計測、動的粘弾性測定(DMA)で骨質を評価した。その結果、骨幹部よりも骨端部で卵巣摘出の効果が顕著であることが明らかになり、今後の研究に有意義な結果が得られた。

研究成果の概要(英文)：Osteoporotic model femur specimens were obtained from rats at 13 or 19 weeks after ovariectomy. In order to evaluate the bone mass and bone quality, the measurement of ultrasonic propagation characteristics, X-ray CT photography and dynamic mechanical analysis (DMA) were carried out. Furthermore, 4-point bending tests and static compression tests of control and osteoporotic model femur specimens were performed. During the tests, microdamage accumulation of rat femur was monitored by acoustic emission. Consequently, it was found that the influence of ovariectomy was more significant for proximal rather than diaphysis.

研究分野：生体力学、材料評価工学

キーワード：疲労骨折 骨粗鬆症 骨量 骨質 骨折リスク 音響診断

1. 研究開始当初の背景

(1) 皮質骨に繰返し負荷が加わると損傷が蓄積し、リモデリングによる回復が不十分な場合は疲労骨折に至る。皮質骨の疲労損傷過程については Pattin ら (J. Biomechanics, 1996) の弾性率測定や、O'Brien ら (J. Biomechanics, 2003) の数千サイクル毎の損傷観察があるが、きわめて巨視的・間欠的な情報しか得られていない。

これに対し研究代表者ら (JBSE, 2008 など) は、ウシ皮質骨の繰返し圧縮、曲げ、ねじり負荷下でのマイクロ損傷を AE モニタリングし、たとえば、圧縮疲労試験中の負荷/除荷中の損傷を判別するなどして、マイクロ損傷蓄積現象を明らかにした。このようなマイクロ損傷の動的検出・評価に基づいた骨折リスクに対する力学的アプローチは他に類例がない。

(2) 高齢社会の現代において骨粗鬆症患者が増加しつつあり、日本ではその数が約 1300 万人と推測されている。骨粗鬆症は「骨強度の低下を特徴とし、骨折のリスクが増大しやすくなる骨格疾患」と定義されており、この骨強度とは骨密度と骨質の 2 つの要因により説明される。骨密度は単位体積当たりの骨量を表わしており、骨質とは骨の材質特性と構造特性により規定されている。この骨強度の低下により日常生活動作において骨に加わる軽微な外力であっても骨折を生じてしまい、最終的には、寝たきりの生活や合併症を引き起こし QOL (Quality of Life) と ADL (Activity of Daily Living) の低下、死亡リスクの上昇につながる。従って骨粗鬆症による骨折の早期診断は骨格の健康と QOL の維持、改善に大きく寄与するため重要な意義を持つ。

2. 研究の目的

(1) 骨粗鬆症を模擬した試験体を作成し、骨量および骨質を評価する。具体的には、X 線 CT 撮影、超音波透過特性計測および動的粘弾性測定 (DMA) を行う。

(2) 曲げ試験および静的圧縮試験を行い、骨粗鬆症に伴う強度や弾性率の劣化を評価する。また、アコースティック・エミッション (AE) 法で微視破壊過程を評価し、最終破断に至るまでの微視損傷の蓄積過程を評価する。

(3) 以上の結果を総合的に検討し、骨質の劣化と骨折リスクの増大の音響情報による診断法の開発に関する基礎的知見を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) 平成 27 年度は、骨粗しょう症を模擬するため、薬品によって脱灰した低密度皮質骨試験片を作製し、圧縮試験を行い、アコースティック・エミッション (AE) 法で破壊挙動を調査した。

はじめに、ウシ大腿骨から直方体ブロック状の試験片を作製し、見掛けの密度が元の 80% になるまで薬品 (カルキトックス: 塩酸 4.8%, エチレンジアミン四酢酸二ナトリウム (EDTA・2Na) 0.1%) による脱灰処理を施した。しかしながら、試験片表面付近のみがほぼ完全に脱灰され、内部には未脱灰の組織が残った。他の薬品 (K-CX: 塩酸, キレート剤など) の使用、脱灰液の濃度の調整、脱灰中の温度や時間の調整などを試みたが、全体が均一な密度になる試験片は得られなかった。そこで、試験片形状を円筒にして脱灰液との接触面積を大きくすることで、未脱灰部分を最小化した。

(2) 平成 28 年度は、ラットの健全な大腿骨 (Ctrl) と骨粗鬆症の骨構造を模擬するために卵巣摘出を施した大腿骨 (Ovx) を用いた。卵巣摘出は 7 週齢で施し、Ctrl と Ovx 共に 13 週齢と 19 週齢にて大腿骨を摘出した。これら的大腿骨に対し 4 点曲げ試験と静的圧縮試験を行うため、前者は骨幹部分を中心として約 22 mm、後者は骨幹部 10 mm を切り出し試験片とした。

(3) 大腿骨試験片は機械加工後、3 点曲げ負荷と圧縮負荷のモードで動的粘弾性測定 (DMA) を行った。DMA 測定には、埼玉大学の動的粘弾性測定装置 (MetraVib, DMA50) を用いた。Fig. 1 にそれぞれの動的粘弾性測定システムを示す。3 点曲げ負荷に関してはスパン 20 mm で大腿骨後部側が引張面となるようにした。動的粘弾性測定共に 37°C の生理食塩水で行い、中央値 5.0 N、振幅 1.0 N の正弦波の荷重を加え、周波数帯域 1~10 Hz とした。

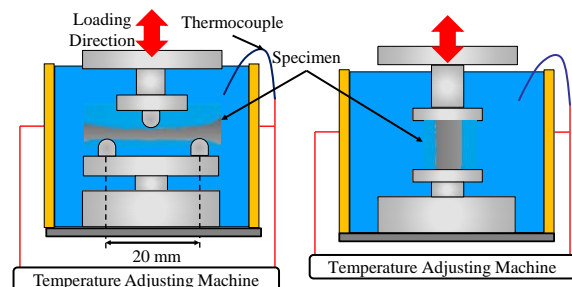


Fig.1 System of Dynamic Mechanical Analysis

(4) 動的粘弾性測定と同様に、37°C の生理食塩水にて静的圧縮試験と 4 点曲げ試験を行った。4 点曲げ試験は内スパン 6 mm、外スパン 18 mm とした。両試験とも負荷速度 0.1 mm/min. であった。試験中に発生した AE 信号を、試験片両端に接着した共振型 AE センサ (富士セラミックス, Z3T3D-LYX) にて計測した。AE 計測条件はプリアンプゲイン 60 dB、しきい値 26.0 dB (=20.0 μV)、センサの共振周波数約 400 kHz で測定周波数帯域は 4 点曲げ試験が 230~580 kHz、静的圧縮試験が 230~800 kHz とした。試験中の試験片をカメラ

を用いて 1 fps で撮影し、圧縮試験片に関してはデジタル画像相関法にてひずみの算出を行った。

4. 研究成果

(1) 平成 27 年度に作成した低密度試験片の圧縮試験を行い、AE 法でマイクロ損傷の検出を行い、微視破壊過程を調査した。圧縮強度及び圧縮弾性率は、健全骨に比べて優位に減少した。しかしながら、圧縮破断ひずみには有為な変化は認められなかった。健全骨では、ほとんどの AE 信号は最終破断時に検出され、徐々にマイクロ損傷が蓄積しカタストロフィクな破壊が生じたことが示された。一方、低密度骨では、最大荷重前後に大振幅の AE 信号が検出され、巨視的なき裂が段階的に進展して破壊に至ることが理解された。

(2) 平成 28 年度に作成した全ての試験片に対し、大腿骨の内部構造の把握と骨密度に値する骨量指標の算出するために、X 線 CT 撮影を行った。撮影には近畿大学バイオメカニクス研究室の X 線 CT 撮影装置(株式会社島津製作所, inspeXio SMX-90CT) を用いた。近畿大学にて撮影した 19 週齢の大腿骨試験片の近位骨端部と骨幹部の X 線 CT 画像を Fig. 2 に示す。特に近位骨端部において海綿骨が粗になっていることがわかる。

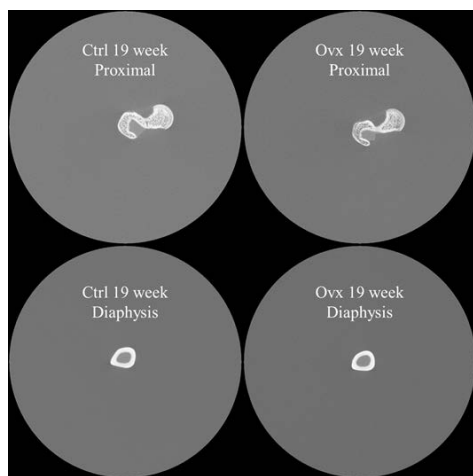


Fig.2 X-ray CT Image

(3) ミネラルの石灰化度を考慮し骨量の比較を行うために、X 線 CT 画像の輝度値の合計を算出した。その際、撮影画像から算出した大腿骨全体、近位骨端部、骨幹部での輝度合計の平均値を求めた。その結果、13 週齢および 19 週齢のいずれでも、Ctrl に比べ Ovx の大腿骨全体の輝度値は小さくなった。この傾向は、骨幹部よりも近位骨端部の方が顕著であり、すなわち、卵巣摘出の影響は大腿骨近位部の海綿骨に顕著に表れており、骨量減少が生じたと言える。さらに、骨幹部に関しては骨量減少が生じていないことも示唆された。

(4) 卵巣摘出により大腿骨の巨視的な構造(骨質における構造特性)が変化しており、骨中を伝わる超音波伝播特性を測定することで構造の評価を行った。13 週齢の Ctrl と Ovx の結果の比較より、後者の方が減衰が小さくなっていることがわかる。これは X 線 CT 画像より算出した輝度値からわかるように 13 週齢の Ovx の方が骨幹部の骨量の平均値で上回っており骨密度が高いためだと考えられる。一方、19 週齢の Ctrl と Ovx の結果の比較においては後者の方が減衰が大きくなっている。これは骨吸収が骨形成を上回った負のリモデリングにより、骨幹部の髓腔が拡大したためだと考えられる。したがって、週齢が高くなったことで卵巣摘出の影響がより表れたと言える。

(5) 13 週齢の Ctrl (n=2), Ovx (n=3), 19 週齢の Ctrl と Ovx (n=4) の試験片に対し、圧縮負荷モードおよび曲げ負荷モードで動的粘弾性測定を行った。圧縮負荷モードに関しては、貯蔵弾性率、損失弾性率共に値の差が見られず、結果として損失正接もおおむね等しい値となった。これは圧縮試験片が大腿骨骨幹を主としており、卵巣摘出による影響がほとんどなかったためだと考えられる。一方、曲げ負荷モードに関しては、貯蔵弾性率、損失弾性率共に 13 週齢の試験片より 19 週齢の試験片の値が上回っていた。そのため損失正接の値に大きな差はみられなかった。これは、加齢による骨の成長の結果として弾性、粘性共に増加したことが原因だと考えられる。

(6) 4 点曲げ試験を行い、微視破壊過程を AE 法で評価した。試験中の試験片の観察結果から、遠位骨端部に骨軸方向に沿ったき裂が観察された。一方、AE 位置評定結果でも高振幅 AE、すなわち比較的大きな損傷が検出された。Ovx に関しては応力低下前に高振幅の AE 信号が複数検出されており、骨端部の骨構造がより脆いことが示唆された。

また、静的圧縮試験を行ったところ、ほとんど全ての試験片最大応力到達前に AE 信号が検出された。また、AE 位置評定結果より、試験片端部に高振幅の AE 信号が集中しており、崩壊が生じていることがわかる。Ovx においては複数箇所にて崩壊が生じている試験片が多く、骨構造の劣化が示唆された。

(7) 13 週齢と 19 週齢の Ctrl と Ovx の曲げ強度、ヤング率、圧縮強度をそれぞれ比較した。曲げ強度に関して、全体的に有意な差はみられなかったが 13 週齢の Ovx がやや低い値を示した。これは曲げ試験片切り出しの際に卵巣摘出の影響を受けた骨端部を多く含んでいるためだと考えられる。一方、ヤング率と圧縮強度は 19 週齢の Ctrl と Ovx 間で有意差がみられ ($p < 0.05$)、これより骨幹部であっても卵巣摘出の影響期間が長くなることで機械的

性が劣化したことが示唆された。

<引用文献>

- ① C. A. Pattin, W. E. Caler and D. R. Carter, , Cyclic Mechanical Property Degradation During Fatigue Loading of Cortical Bone, J. Biomechanics, Vol. 29, No. 1, (1996) pp.69-79.
- ② F. J. O' Brien, D. Taylor and T. C. Lee, Microcrack accumulation at different intervals during fatigue testing of compact bone, J. Biomechanics, Vol. 36, (2003) pp.973-980.
- ③ S. WAKAYAMA and T. SUEMUNE, Characterization of Fracture Process in Bovine Bones under Static and Cyclic Loading, J. Biomechanical Science and Engineering, Vol. 3, No. 4 (2008), pp. 490-498

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

- ① Takenobu SAKAI, Satomi SUZUKI and Shuichi WAKAYAMA, Sensitivity Enhancement of FBG Sensors for Acoustic Emission Using Waveguides, Experimental Mechanics, 査読有, Volume 56, Issue 8 (2016), pp 1439-1447
DOI: 10.1007/s11340-016-0178-6
- ② O. F. PACHECO-SALAZAR, Shuichi WAKAYAMA, Takenobu SAKAI, C. R. RÍOS-SOBERANIS, J. V. CAUICH-RODRÍGUEZ and J. M. CERVANTES-UC, Damage Accumulation Studied by Acoustic Emission in Bone Cement Prepared with Core-Shell Nanoparticles under Fatigue, Journal of Materials Science, Vol. 51, No 12 (2016), pp. 5635-5645
DOI: 10.1007/s10853-016-9865-z

[学会発表] (計 8 件)

- ① 金澤 孝悦, 若山 修一, 山本 衛, 坂井 建宣, 骨粗鬆症疾患モデルラット大腿骨における微視損傷蓄積過程の AE 評価, 日本機械学会 2016 年度年次講演会, S0220105, 2016 年 9 月 12 日~14 日, 九州大学, 福岡県・福岡市
- ② T. SAKAI, K. KODAMA, S. WAKAYAMA, K. KAGEYAMA, K. HASE AND S. OTA, Development of Non-invasive Diagnosis

Method for Knee Osteoarthritis by Using Knee Joint Angle and Acoustic Information, 8th International Conference on Acoustic Emission and 23rd International Acoustic Emission Symposium, Progress in Acoustic Emission, Vol. 18, pp. 83-88, 2016 年 12 月 5 日~8 日, 京都テルサ, 京都府・京都市

- ③ F. MATSUOKA, S. WAKAYAMA, S. SUZUKI, T. SAKAI and E. YAMAMOTO, AE Characterization of Microdamage in Tendon under Different Loading Condition, 8th International Conference on Acoustic Emission and 23rd International Acoustic Emission Symposium, Progress in Acoustic Emission, Vol. 18, pp. 89-92, 2016 年 12 月 5 日~8 日, 京都テルサ, 京都府・京都市
- ④ 松岡 史都, 若山 修一, 坂井 建宣, 山本 衛, スポーツ事故を模擬した衝撃負荷下の家兎膝蓋腱の AE モニタリング, 第 43 回日本臨床バイオメカニクス学会, 2016 年 10 月 8 日~9 日, かでる 2・7, 北海道・札幌市
- ⑤ 金澤 孝悦, 若山 修一, 坂井 建宣, 脱灰処理を施したウシ皮質骨の微視損傷蓄積過程の AE 評価, 日本機械学会 2015 年度年次講演会, J0230305, 2015 年 9 月 14 日~16 日, 北海道大学, 北海道・札幌市
- ⑥ 松岡 史都, 若山 修一, 坂井 建宣, 山本 衛, 衝撃引張負荷下の家兎膝蓋腱の断裂過程の AE モニタリングと高速度カメラによるその場観察, 日本機械学会 2015 年度年次講演会, , 2015 年 9 月 14 日~16 日, 北海道大学, 北海道・札幌市
- ⑦ 松岡 史都, 若山 修一, 坂井 建宣, 山本 衛, スポーツ事故を模擬した家兎膝蓋腱の衝撃損傷の AE 評価, 第 20 回アコースティック・エミッション総合コンファレンス, pp.181-184, 2015 年 11 月 19 日~20 日, ウィンク愛知, 愛知県・名古屋
- ⑧ F. MATSUOKA, S. WAKAYAMA, T. SAKAI, E. YAMAMOTO, Characterization of rupture process in rabbit patellar tendon under dynamic tensile load by acoustic emission technique, 6th International Conference on the Mechanics of Biomaterials and Tissues, Poster, 2015 年 12 月 6 日~10 日, ハワイ(アメリカ合衆国)

〔図書〕（計 0 件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況（計 0 件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

若山 修一 (WAKAYAMA, Shuichi)
首都大学東京・大学院理工学研究科・教授
研究者番号：00191726

(2) 研究分担者

山本 衛 (YAMAMOTO, Ei)
近畿大学・生物理工学部・准教授
研究者番号：00309270

(2) 研究分担者

坂井 建宣 (SAKAI, Takenobu)
埼玉大学・研究機構研究企画推進室・准教授
研究者番号：10516222

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

()